

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته ایمنی شناسی پزشکی

عنوان :

بررسی غلظت $TNF-\alpha$ و پذیرنده‌های محلول آن ($sTNF-R1$ و $sTNF-R2$) در مایع
سمینال بیماران مبتلا به واریکوسل و بیان پروتئین آپوپتوزی $TNF-R1$ بر سطح
اسپرم این بیماران

توسط : سعید سلیمانی

استاد راهنما : دکتر محمدمهدی محمدی

استاد مشاور : دکتر علی اصغر کتابچی، دکتر عباس بهرام پور

سال تحصیلی : ۱۳۹۵-۱۳۹۶



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of medicine

In partial fulfillment of the requirements for the degree of
Master of Science

Title:

**Evaluation of TNF- α & Its Soluble Receptors (sTNF-R1 and sTNF-R2)
concentration in seminal fluid and expression of proapoptotic receptor
TNF-R1 on sperm cells from Patients with varicocele**

By:

Saeed Soleimany

Supervisor:

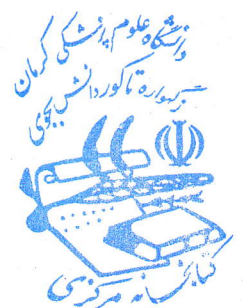
Dr. Mohammad Mahdi Mohammadi

Advisor:

1-Dr Ali Asghar Ketabchi

2-Dr Abbas Bahrampour

2016



مقدمه و هدف: ناباروری، به عنوان یکی از مباحث مهم سلامت عمومی جامعه مطرح است، بطوریکه ۱۵٪ از زوجها در سن باروری، نابارور هستند. سهم مردان در ایجاد ناباروری ۴۰-۵۰٪ می‌باشد. یکی از علل اصلی ناباروری در مردان، "واریکوسل" است. واریکوسل، اتساع غیر طبیعی وریدهای بیضه در شبکه عروقی بیضه‌هاست. مطالعات نشان می‌دهد که اختلال اسپرم‌زایی و تولید اسپرم در جریان واریکوسل (از نظر تعداد و تحرک آن)، تا حدی مربوط به تنظیم غیرطبیعی آپوپتوز است. نتایج مطالعات در خصوص حضور $TNF-\alpha$ و پذیرنده آن ($TNF-R1$) در سیمن متناقض گزارش می‌شود. ما در این مطالعه قصد داریم بیان و غلظت عوامل اصلی آپوپتوز ($TNF/TNF-R1$) و پذیرنده های محلول آن ($sTNF$) $R1,2$ را در سیمن بیماران مبتلا به واریکوسل بررسی کنیم.

مواد و روشها: در یک مطالعه مورد - شاهدی، ابتدا نمونه ها از نظر سن تطابق یافته و سپس طبق دستورالعمل WHO، ۳-۵ روز بعد از آخرین انزال از گروه مورد (۴۵ نفر) با میانگین سنی (28.7 ± 7.8) و واریکوسل درجه ۲ و ۳ انتخاب و آنالیز شدند. همزمان با آن نمونه‌های کنترل (۴۵ نفر) از سیمن مردان غیر مبتلا به واریکوسل انتخاب و آنالیز شدند. بیان مولکول $TNF-R1$ بر سطح سلول اسپرم با تکنیک فلوسیتومتری و همچنین غلظت مولکولهای محلول $TNF-\alpha$ و $sTNF-R1,2$ در مایع سمینال بیماران مبتلا به واریکوسل با تکنیک ELISA اندازه‌گیری شدند. اطلاعات دموگرافیک با استفاده از یک فرم جمع‌آوری اطلاعات اخذ گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۹ نرم افزار SPSS انجام شد.

یافته‌ها: براساس نتایج مطالعه حاضر، غلظت $TNF-\alpha$ در مایع سمینال گروه مورد (7.36 ± 1.95 pg/mL) به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (3.80 ± 1.35 pg/mL) بالاتر بود ($p\text{-value} \leq 0.001$). همچنین ارتباط معنی دار و معکوسی بین $TNF-\alpha$ با تعداد ($r = -0.36$) و تحرک اسپرم ($r = -0.14$) در گروه مورد وجود داشت. در نمونه های سیمن گروه مورد پذیرنده های محلول ($sTNF-R1$) (3.04 ± 1.15 ng/mL) و ($sTNF-R2$) (0.09 ± 0.064 ng/mL) قابل شناسایی بودند اما اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. از طرفی با استفاده از تکنیک فلوسیتومتری پروتئین $TNF-R1$ بر سطح اسپرم انزالی بیماران مبتلا به واریکوسل و همچنین گروه شاهد مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج ما با توجه به فقدان پذیرنده $TNF-R1$ روی اسپرم این احتمال مطرح می شود که آپوپتوز از طریق مسیر خارجی $TNF / TNF-R1$ روی پارامترهای اصلی اسپرم (تعداد و تحرک) تاثیر ندارد و احتمالا کاهش تعداد و تحرک اسپرم در جریان واریکوسل بواسطه مکانیسم‌های دیگری، غیر از مسیر آپوپتوزی $TNF / TNF-R1$ انجام می پذیرد.

کلید واژه‌ها: واریکوسل، آپوپتوز، سیستم $TNF-TNF-R1$ ، فلوسیتومتری، الایزا

Abstract

Background and Objectives: Infertility is commonly defined as the failure to conceive after one year of unprotected intercourse. Infertility is considered as one of the main public health issues, because it affects about 15% of the couples of reproductive age. The male factor is involved in 40-50% of infertility cases. Varicocele is an abnormal dilation of the pampiniform venous plexus in the scrotum that develops during puberty; it can affect testicular growth and semen parameters (especially sperm count and motility), and is considered to be a major cause of male infertility. It is suggested that the spermatogenic dysfunction in varicocele testis may be related partly to an abnormal control of sperm death and apoptosis. The results of studies about the presence or action of TNF- α and Receptor (TNF-R1) in semen is a matter of controversy. In this study, we measured the presence on sperm cells of TNF-R1 and levels in seminal plasma of soluble forms of sTNF-R1,2 as the major triggers of apoptosis in the semen of patients with and without varicocele.

Methods: In a case/control study, semen samples were obtained following 3–5 days of ejaculatory abstinence from 45 adolescents (mean age 28.3 ± 7.8 years) with varicocele of grades II and III (study group), and 45 age-matched adolescents without varicocele as control group. Semen analysis was done according to the World Health Organization recommendation. The TNF-R1 expression on Sperm cells was performed using Flow cytometry. Levels of soluble TNF-R1 and soluble TNF-R2 in seminal fluid was measured by ELISA. The demographic characteristics were taken by a data collection form. Data were analyzed by using SPSS version 19.

Results: Based on the results of this study seminal level of TNF- α in case group (7.36 ± 1.95 pg/mL) was significantly lower ($p < 0.001$) than the control group. sTNF- R1 level (30.43 ± 15 ng/mL) and sTNF- R2 level (0.09 ± 0.064 ng/mL) was detected in patients but significant difference were not observed in the two groups. No TNF-R1 protein on the surface of sperm cells in patients with varicocele and control groups were not detected by using Flow cytometry.

Conclusion: According to our results, the effects of apoptosis via this system on the quality of sperm parameters (count and motility) were not demonstrated. Decrease in sperm count and sperm motility in varicocele seems not to be attributed to TNF-related apoptotic mechanisms and probably may occur through other mechanisms of cell death.

Key words: Varicocele, Apoptosis, TNF/TNF-R1 system, Flow Cytometry, E.L.I.S.A